

Aus der Frauenklinik - Abteilung für Experimentelle
Endokrinologie - der Johannes Gutenberg - Universität
Mainz

**Metabolismus freien
Dehydroepiandrosterons und einiger
Sulfokonjugate in Zellkulturen
menschlicher Gewebe.**

**Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg - Universität in Mainz
den Medizinischen Fachbereichen vorgelegt**

von

Lore Troeber-Bahm
aus Ludwigshafen

Mainz 1978

Aus der Frauenklinik - Abteilung für Experimentelle
Endokrinologie - der Johannes Gutenberg - Universität
Mainz

**Metabolismus freien
Dehydroepiandrosterons und einiger
Sulfokonjugate in Zellkulturen
menschlicher Gewebe.**

**Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg - Universität in Mainz
den Medizinischen Fachbereichen vorgelegt**

von

Lore Troeber - Bahm

aus Ludwigshafen

Mainz 1978



Fachbereichsdekan: Professor Dr. C.-H. Schweikert

1. Gutachter: Professor Dr. G.H. Rathgen

2. Gutachter: Professor Dr. v. Friedberg

1. Klasse

2. Literaturverzeichnis

Meinen Eltern

1.1 Mathematik und Naturwissenschaften

1.2 Mathematik

1.3 Mathematik und Naturwissenschaften

1.4 Mathematik und Naturwissenschaften

2. Mathematik und Naturwissenschaften

2.1 Mathematik und Naturwissenschaften

2.2 Mathematik und Naturwissenschaften

2.3 Mathematik und Naturwissenschaften

3. Mathematik und Naturwissenschaften

4. Mathematik und Naturwissenschaften

5. Mathematik und Naturwissenschaften

6. Mathematik und Naturwissenschaften

7. Mathematik und Naturwissenschaften

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung
2. Literaturübersicht
 - 2.1 Dehydroepiandrosteron und sein Stoffwechsel
 - 2.2 Uterus Myomatosus
 - 2.3 Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
3. Versuchsbeschreibung
 - 3.1 Untersuchte Gewebe
 - 3.2 Fallbeschreibung
 - 3.3. Aufarbeitung
4. Tabellen und graphische Darstellung
5. Diskussion
6. Zusammenfassung
7. Verwendete Abkürzungen und Trivialnamen
8. Literaturverzeichnis

1. EINLEITUNG

Es gibt keine experimentellen Beweise, daß Hormone kausale Faktoren in der Transformation einer normalen Zelle zu einer malignen Zelle sind, aber es gibt viele Gründe anzunehmen, daß Hormone an der Entwicklung bzw. beim Wachstum maligner Mamma-Tumoren beteiligt sind (14, 86, 87). Zahlreiche Untersuchungen befassen sich mit dem Einfluß verschiedener Hormone auf das Krebswachstum. In neueren Untersuchungen fand man Rezeptoren für Östradiol im menschlichen Brustgewebe (10, 19, 24, 27, 28, 42, 43, 88, 91) und wies nach, daß nur Tumoren, in denen solche Rezeptoren nachweisbar waren, auf Hormontherapie ansprachen und im Wachstum beeinflusst werden konnten (10, 19, 42). Der Einfluß von Hormonen auf die Aktivierung bzw. Hemmung von Enzymsystemen ist seit langem bekannt (6, 7, 51, 95). So konnten zahlreiche Autoren nachweisen, daß das Schlüsselenzym des Pentose-Phosphat-Zyklus, die Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase im Mammakarzinomgewebe in erhöhter Konzentration vorhanden ist (19, 76), während gleichzeitig im Plasma erniedrigte Konzentrationen von Dehydroepiandrosteron (DHEA) bzw. DHEA-Sulfat zu finden sind (12, 14, 15, 16, 17, 18, 86, 87, 88, 101); was zu der Annahme führte, daß eine ungezügelter Glucose-6-phosphat-Aktivität via Pentosephosphatzyklus im Übermaß Bausteine für die Zellreplikation bereitstellen kann und somit das Tumorstadium beginnt.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit dem Einfluß von markiertem DHEA, DHEA-Sulfatid und DHEA-Laurylsulfat auf das in-vitro-Wachstum von Zellkulturen menschlicher Uterusmyome, eines Endometriumpolypen und eines Zervix-Uterus-Karzinoms, sowie mit dem Metabolismus des zugefügten Steroids bzw. Steroidkonjugats.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1 DHEA und sein Stoffwechsel

DHEA stellt das mengenmäßig wichtigste Steroid im menschlichen Blut dar (70, 102) und nimmt eine zentrale Stellung im Stoffwechsel der Androgene ein (93). Bei einer täglichen Produktionsrate von 10 - 40 mg erreicht die Konzentration dieses C_{19} -Steroids im Plasma gesunder Männer und Frauen Werte bis zu 250 μg bzw. 150 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ (24, 70). Zum Zeitpunkt der Geburt sind die Androgenkonzentrationen im Nabelschnurblut von männlichen und weiblichen Föten identisch (2). Nach der Geburt kommt es zu einem Abfall der Androgenspiegel, die erst präpuberal mit dem Anstieg von FSH, LH, Östradiol und Progesteron wieder ansteigen (103), wie dies für Dehydroepiandrosteron und Dehydroepiandrosteronsulfat gezeigt wurde (41), und die auch beim Menschen für das Einsetzen der Pubertät von wesentlicher Bedeutung zu sein scheinen (41, 47).

Hinweise darauf, daß Androgene auch beim Menschen für die Zyklusregulierung eine Rolle spielen, sind neueren Untersuchungen zu entnehmen (1). So fanden Abraham und Mitarb. bei Vergleich von eumenorrhoeischen und oligo-/amenorrhoeischen hirsuten Frauen einen statistisch signifikanten Konzentrationsunterschied für Dehydroepiandrosteronsulfat, das bei den letztgenannten höher war. Zu einem ähnlichen Ergebnis kam Grattarola bei Mammakarzinompatientinnen mit und ohne ovulatorischen Zyklus (26). Der kausale Zusammenhang zwischen dieser erhöhten Dehydroepiandrosteronsulfatkonzentration der Oligo- bzw. der Amenorrhoe ist jedoch noch unklar (1). Mit Einsetzen des Klimakteriums und Übergang von der Menopause zur Postmenopause kommt es gewöhnlicherweise neben dem deutlichen Abfall der Plasmaöstrogene zu einer allmählichen Verminderung der Androgene, wobei die Ovarien weiterhin Androgene sezernieren (92).

In der Postmenopause ist nahezu die gesamte extra-glanduläre Aromatisierung von Androgenen bedingt, wobei die Höhe der Umwandlungsrate von Androstendion zu Östron proportional von Alter, Körpergewicht und Grad der Leberveränderung abhängig ist (25, 90).

DHEA entsteht aus Cholesterin über die Zwischenstufe Pregnenolon in der Nebennierenrinde (5, 55, 102).

Während die eigentlichen Steroidhormone der Nebennierenrinde und der Gonaden ihre spezifische Wirkung als freie Verbindungen entfalten, liegt DHEA im menschlichen Blut fast ausschließlich als Sulfokonjugat vor (4, 6, 54, 56). Sulfokonjugiertes DHEA besitzt fast ausschließlich lipophilen Charakter (4, 68) und ist im Blut zu über 80 % an α -Lipoproteide (65, 79) oder Albumin gebunden (94). Es konnte überwiegend als DHEA-Sulfatid, ein Steroidester mit Diglyceridschwefelsäure (64) und in geringen Mengen als DHEA-Phosphatid (67) identifiziert werden. Die Biosynthese des DHEA-Sulfatids aus freiem DHEA und DHEA-Sulfat konnte in vitro in Leber- und Nebennierenrindengewebe nachgewiesen werden (66, 77). Auch in vivo konnte man eine schnelle quantitativ bedeutende Sulfatidbildung nach intravenöser Injektion von markiertem DHEA und DHEA-Sulfat nachweisen (78, 94). Der Stoffwechsel des DHEA-Sulfatids wurde in verschiedenen Organen und Geweben in vivo untersucht (33, 34, 71). Ausgehend von diesen Ergebnissen, des Nachweises der lipophilen Konjugate in verschiedenen Geweben und Körperflüssigkeiten (68, 69), sowie ihres direkten Metabolismus z.B. zu Östrogenen ohne vorherige Dekonjugierung, nimmt Oertel an, daß DHEA-Sulfatid die eigentliche physiologische Wirkform dieses C₁₉-Steroids darstellt, zumal es wegen seiner Lipophilie wesentlich bessere Permeabilitätseigenschaften für biologische Membranen besitzt (70).

Wirkung des DHEA:

- 1.) Die Bildung von Androgenen und Östrogenen aus sulfokonjugiertem DHEA ist experimentell gesichert (8, 62). Im Δ -5-Stoffwechselweg ist es die direkte Vorstufe des Androstendiols, welches in der letzten Zeit wegen erheblicher Affinität zu Östrogenrezeptoren besondere Beachtung gefunden hat, da es beim Mammakarzinom eine Rolle spielen könnte (86).
- 2.) Eine wichtige Rolle scheint der spezifische, nicht kompetitive Hemmeffekt auf die G-6-PDH zu spielen, der an Enzympräparationen verschiedenster Säugetiergewebe demonstriert werden konnte (9, 51, 52, 56, 57, 58, 63). Dieselbe Hemmkinetik mit einer gegenüber freiem DHEA sogar gesteigerten inhibitorischen Potenz zeigte das DHEA-Sulfatid in Versuchsreihen, die mit G-6-PDH Präparationen aus verschiedenen menschlichen Geweben unter physiologischer Konzentration des Hemmstoffs durchgeführt wurden (7, 59, 60, 61, 80, 81, 82, 83). Dies bestätigt die Hypothese Oertels, daß das DHEA-Sulfatid die hauptsächliche Wirkform und den Aktivitätsregulator der G-6-PDH unter physiologischen Bedingungen darstellt. Auch in vivo läßt sich unter physiologischen (30) und pathologischen (9, 38, 76) Bedingungen eine Beziehung zwischen DHEA-Plasmaspiegel und G-6-PDH zeigen. Neuere Untersuchungen machen einen Zusammenhang der regulatorischen Effekte von DHEA, G-6-PDH und cAMP wahrscheinlich (74, 76). Obwohl in vitro eine unterschiedliche Aktivierung von cAMP-Phosphodiesterase durch DHEA und DHEA-Sulfatid gezeigt werden konnte, scheint dieser direkte Effekt untergeordnet zu sein der indirekten Hemmung der cAMP-Phosphodiesterase durch DHEA und DHEA-Sulfatid über das G-6-PDH-System (75).
Die allosterische Inhibition der G-6-PDH durch DHEA und DHEA-Sulfatid (72, 73) scheint zur Akkumulation von G-6-P zu führen, das als kompetitiver Hemmer

der cAMP-Phosphodiesterase bekannt ist (74). In Untersuchungen, die sich mit dem Einfluß von DHEA und seinen Konjugaten auf Zellkulturen normaler und neoplastischer Gewebe befaßten, konnte ein deutlicher inhibitorischer Effekt auf das Zellwachstum nur in Zellkulturen von Tumorgewebe beobachtet werden (84, 97).

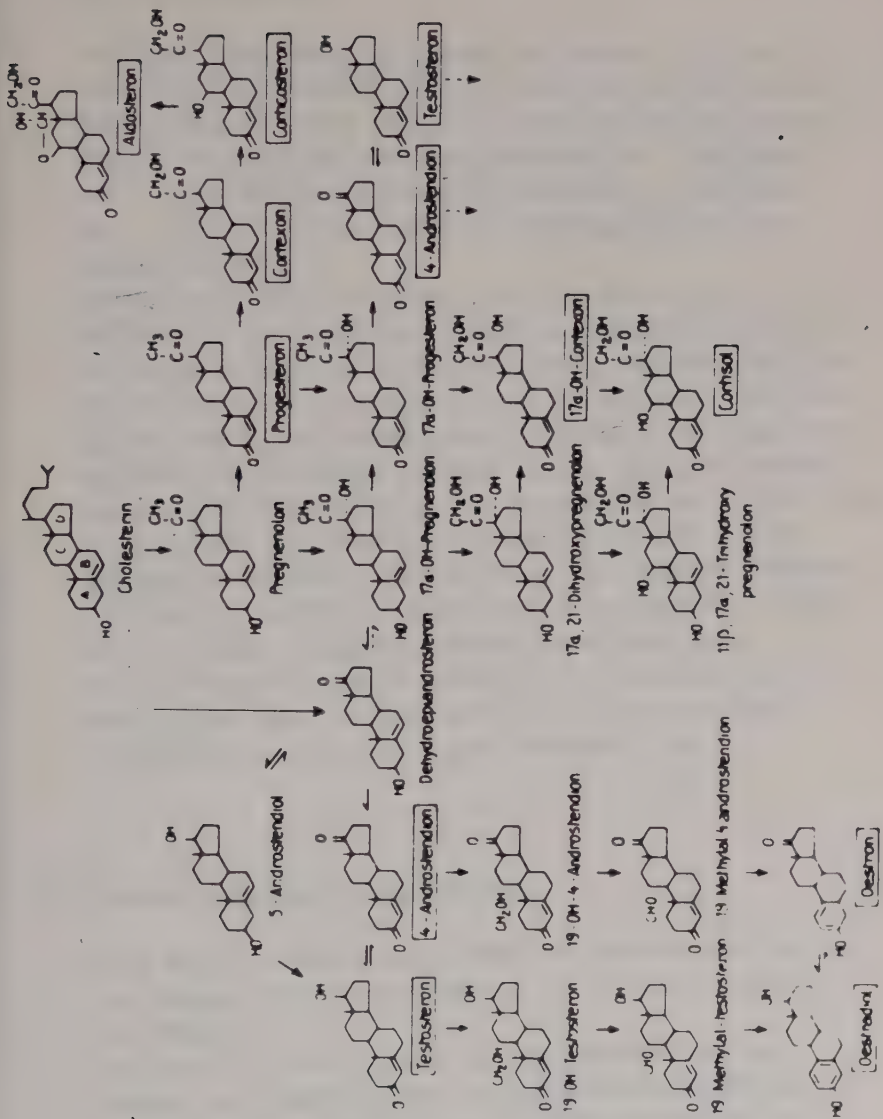


Abb. 1: Biosynthese und Metabolismus von Dehydroepiandrosteron (105).

2.2 UTERUS MYOMATOSUS

Als Myome bezeichnet man gutartige Tumoren, die aus unregelmäßigen Bündeln glatter Muskelfasern und hyalinem Bindegewebe bestehen (45, 104). Sie stellen den größten Anteil der genitalen Tumoren überhaupt dar. Das Wachstum ist an die Ovarialfunktion gebunden, in der Menopause tritt im allgemeinen eine Schrumpfung der Myomknoten ein (46).

Als Ursache der Entstehung spielen Einwirkungen von Seiten des Organismus und lokale Bedingungen eine Rolle. Die Myome entwickeln sich aus normalen Uterusmuskelzellen, die an einer umschriebenen Stelle eine erhöhte Wachstumspotenz zeigen. Das Myomwachstum kann durch Androgene oder synthetische Gestagene gehemmt werden, was den Gedanken nahelegt, daß das Wachstum von Östrogenen beeinflusst werden könnte (45). Die Myome werden nach ihrem Sitz in der Gebärmutter (Corpus, Portio) sowie der Wachstumsrichtung (intramural, subserös, submucös, intraligamentär) unterteilt. Folgen des Myomwachstums können u.a. sein: Fertilitätsstörungen, Kompression der Umgebung, Stieldrehung der Myome, zentrale Nekrose und Zerfall und sarkomatöse bzw. karzinomatöse Entartung (45).

2.3 Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase

Nach der Aufnahme in die lebende Zelle wird die Glucose, von wenigen Ausnahmen abgesehen, in Glucose-6-phosphat überführt.

Das G-6-P ist eine der Schlüsselsubstanzen im Stoffwechsel der Glucose. Hier teilen sich die Stoffwechselwege. Vom G-6-P ist ein Umbau und Abbau möglich, der in vielfältiger Form ablaufen kann (13).

Die 4 Hauptwege laufen in folgender Richtung:

- 1.) Glycogenese
- 2.) Freistellung von Glucose
- 3.) Anaerobe Glycolyse (Embden-Meyerhof-Weg, anaerober Abbau zu Lactat)
- 4.) Pentose-Phosphat-Zyklus (oxidativer Abbau zu CO_2 , Hexosephosphat und Triosephosphat).

Wichtig für unsere Betrachtung ist der letztgenannte Weg, der Pentosephosphatzyklus.

G-6-P wird durch die G-6-PDH an C_1 oxidiert zu 6-Phosphogluconolacton. Dabei wird durch die G-6-PDH Wasserstoff auf NADP als Coenzym übertragen. 6-Phosphogluconolacton wird unter erneuter NADPH-Bildung weiter oxidiert und zu Pentosen decarboxyliert (13, 44, 89).

Die physiologische Bedeutung des Pentose-Phosphat-Zyklus liegt in der Bereitstellung von reduziertem NADPH für reduktive Biosynthesen (95) (Fettsäure-, Steroid.- usw. -Synthesen, Hydroxylierungsreaktionen) und von intermediärem Pentosephosphat für die Nucleinsäuresynthese. Insofern scheint der Pentosephosphatzyklus mit seinem Schlüsselenzym G-6-PDH von großer Wichtigkeit für die Zellreplikation zu sein.

Zu den wichtigsten Regulatoren der G-6-PDH gehören die Steroide Pregnenolon und lipophile Sulfokonjugate wie DHEA und DHEA-STD (56, 57, 58).

3. VERSUCHSBESCHREIBUNG

3.1. Untersuchte Gewebe

Die Gewebe entstammen Operationspräparaten der Universitätsfrauenklinik Homburg/Saar. Sie unterteilen sich folgendermaßen:

1785 Atypische Hyperplasie des Endometriums

1793 Entdifferenziertes, infiltrierend
wachsendes Portio-Uteri Karzinom

1796 Uterus myomatosus

1797 Endometrium der Sekretionsphase

1806 proliferierendes Endometrium

3.2. Fallbeschreibung

1785 77jährige Patientin; FA unauffällig,

EA: 1965 Radiomenolyse.

Gyn A: Menarche mit 15 Jahren, Menopause mit 45 Jahren; Partus 1918 und 1922, ohne Komplikationen.

1972 Totalexstirpation des Uterus und beider Adnexe wegen Adenocarcinom des linken Ovars. Hier wurde Gewebe eines Endometriumpolyps untersucht.

Histologie: starke atypische Hyperplasie des Endometriums an umschriebener Stelle mit verstärkter zentraler Proliferation. Nirgends Malignität.

1793 46jährige Patientin; verheiratet seit dem 36. Lebensjahr; FA und EA unauffällig.

Gyn A: ebenfalls unauffällig, Menarche mit 11 Jahren, Zyklus regelmäßig alle 28 Tage,

Dauer 3 - 4 Tage, 5 Partus

JA: Seit 7 Monaten menstruationsähnliche Dauerblutungen; seit der letzten Periode Kontaktblutungen.

Befund: höckerig aufgetriebene Cervix, Adnexe beidseits frei, Uterus vergrößert; rectal: Parametrien frei. Speculum: stark aufgetriebene Portio mit schmierigen Belägen und ausgedehntem Krater und exophytischen Tumorteilen. Abrasio und Entnahme einer PE aus der Portio.

Klinische Diagnose: Portio-NPL III

Histologie, Portio: infiltrierend wachsendes, weitgehend entdifferenziertes Carcinom. Die Infiltration erfolgt in dünnen, netzartigen Strängen.

Therapie und Verlauf: Bis November 1971 wurden intracervikale Radiumstifteinlagen zu je 2000 mgeh und 2 Radiumplatteneinlagen zu je 1000 mgeh durchgeführt. Außerdem ambulante Telekobaltbestrahlungen mit einer perkutanen Gesamtherddosis von 2000 R, nach November 1971 mit bis zu 3900 R. Dann wurde die Therapie von der Patientin abgebrochen.

Nachuntersuchung im Mai 1972: Speculum: blutende Strahlenkolpitis des Scheidenendes mit zentraler Nekrosebildung. Kolposkop: Tüpfelung, oberhalb der Nekrose stark atypische Gefäßzeichnung. Die histologisch untersuchte PE aus diesem Gebiet ergibt jedoch keinen Anhalt für ein Carcinom. Ascitespunktion von 1940 ml. Die am 13.7.72 durchgeführte Laparoskopie ergibt keinen Rezidivverdacht.

1796/1797 50jährige Patientin.

FA: Vater mit 60 Jahren an Silikose,
Mutter mit 66 Jahren an Apoplex gestorben.

EA: Übliche KK, AE vor 20 Jahren.

Gyn A: Menarche mit 10 Jahren, Zyklus regelmäßig 28 - 30/6 - 8, LP 25.4.72. Partus: 3 spontan, kein Abortus, keine gyn. Op.

JA: Dysmenorrhöische Beschwerden, verstärkte Blutungen, verlängerte Blutungsdauer.

Mai 1972 abdominale Totalexstirpation des Uterus unter Mitnahme beider Adnexe.

D: Uterus myomatosus mit Menometrorrhagien, kleine Ovarialzyste links.

1806 34jährige Patientin

FA: Eltern leben und sind gesund

EA: Übliche KK, 1918 AE.

Gyn A: Menarche mit 12 Jahren, Zyklus regelmäßig 26/5, LP: 13.6.72, 2 Partus, kein Abortus.

Jetzige A: Zweimalige Kohabitationsblutung.

Juni 1972 Vaginale Totalexstirpation des Uterus ohne Anhänge. Histologisch: proliferierendes Endometrium.

3.3. Aufarbeitung

Die Gewebe wurden nach dem Verfahren von Dulbecco und Vogt (23) in der Modifikation nach Limburg und Krahe (53) aufgearbeitet und kultiviert.

Das steril entnommene Gewebe wurde sofort in Phosphatpuffer mit Antibiotikazusatz aufgenommen und von Blut und nekrotischen Teilen freipräpariert. Ein Anteil wurde zur Bestimmung der Histologie entnommen. Der Rest wurde bis zum Gewebsbrei mit einer Schere zer-

kleinert. Die fermentative Aufspaltung der Gewebsfragmente erfolgte durch eine 0,2 - 0,25 %ige Trypsinlösung unter ständigem Rühren eines Magnetrührers bei 37°C. Die gelösten Zellen wurden in einen zweiten sterilen Kolben gegossen und die Trypsinisierung mittels eines Eisbades von 4°C abgestoppt. Dieser Vorgang wurde mehrmals wiederholt, bis keine soliden Fragmente mehr vorhanden waren. Danach wurde die Zellsuspension durch eine Mullage abfiltriert und bei 800 - 1000 Upm mehrmals zentrifugiert. Sie wurde zur Entfernung des Trypsins in Phosphatpuffer resuspendiert. Das Zellsediment wurde in das Nährmedium TCM 199 (Fa. Flow Laboratories) aufgenommen und verdünnt. Die Explantation in Zuchtröhrchen erfolgte in Portionen von 1 ml, die je $4 - 6 \times 10^6$ lebende Zellen enthielten. Die Zuchtröhrchen wurden bei 37°C so lange inkubiert, bis ein flächenhafter Zellrasen gewachsen war. Dies war nach 3 - 5 Tagen der Fall. Daraufhin wurden die folgenden Verbindungen in 0,01 ml Triolein oder Propylenglycol zugefügt:

2,88 µg 7α - ^3H -DHEA (2 404 000 cpm ^3H)	entsprechend 10^{-5} Mol
9,15 µg 7α - ^3H -DHEA-Sulfatid (11 020 cpm ^3H)	entsprechend 10^{-5} Mol
5,47 µg 7α - ^3H -DHEA-Laurylsulfat (36 200 cpm ^3H)	entsprechend 10^{-5} Mol

Als Kontrolle diente pures Lösungsmittel. Nach 24 Stunden Inkubation bei 37°C wurden die Zellen nach den Kriterien der CTOC (Cell tissue and organ culturing study group), einer Untersuchung der UICC (Union International contre le Cancer) morphologisch begutachtet.

- + Sichtbare Veränderungen des Zytoplasmas und Zellkernes wie Vakuolen, Kern.- und Plasma-verklumpung
- + (+) Wenige Zellnekrosen, daher aufgelockerter Zellrasen. Restliche Zellen zum Teil intakt, zum Teil Vakuolen, Kern.- und Plasmaverklumpung.
- ++ gehäufeter Detritus, nur noch wenige intakte Zellen.
- +++ völlige Auflösung der Zellen.

Danach wurden die Zellen in wenig H_2O aufgeschwemmt und mit Äther versetzt, um die lipidlöslichen freien Steroide herauszulösen. Die Weiterverarbeitung geschah folgendermaßen:

Isolierung freier Steroide

Die mit 1 ml H_2O verdünnten Proben werden 3mal mit je 2 Vol Äther extrahiert, um die gesamten freien Steroide zu gewinnen. Die Ätherextrakte werden mit 10 ml 1 n Natronlauge und anschließend mit Wasser bis zu neutraler Reaktion gewaschen, um die Östrogene zu entfernen. Der die freien neutralen Steroide enthaltende Ätherextrakt wird eingedampft zur Trockne. Danach wird ein Aliquot zur Radioaktivitätsmessung entnommen.

Isolierung der Steroidkonjugate

Die bereits mit Äther extrahierten Proben werden nun zur Eiweißfällung mit je vier Volumen Aceton versetzt und 60 Minuten bei 37° inkubiert. Das ausgefällte Eiweiß wird abzentrifugiert und der Überstand dekantiert. Das Dekantat wird mit 8 Volumen Diisopropyläther sowie 2 Vol. Butanol-2 (bezogen auf das Ausgangsvolumen der Probe) verdünnt und mit genügend

wasserfreiem Natriumsulfat versetzt weitere 60 Minuten bei 37°C inkubiert und dann filtriert. Der Filtrerrückstand wird mit wenig Diisopropyläther-Butanol-2 (4:1 v/v) gewaschen und das entwässerte Filtrat anschließend im Rotationsverdampfer bei max. 37°C zur Trockne gebracht.

Die Abtrennung der Steroidsulfatide von den Steroidsulfaten erfolgt mittels Säulenchromatographie an Polyamid. Hierzu überführt man den Rückstand des Plasmaextraktes mit wenig Cyclohexan-Diisopropyläther (1:1 v/v) quantitativ auf die im gleichen Lösungsmittelgemisch zubereitete Säule mit Polyamid-SC-6 (Machery, Nagel und Co., Düren). Die Elution der Säule erfolgt mit 50 ml Cyclohexan-Diisopropyläther (1:1 v/v), sowie mit 25 ml Methanol und 25 ml Methanol-Salzsäure (99/1 v/v).

Die beiden ersten Eluate enthalten die Steroidsulfatide, das letzte Eluat die Steroidsulfate.

Die Extrakte werden jeweils zur Trockne eingedampft. Ein Aliquot wird zur Radioaktivitätsmessung entnommen. Der Rest wird wieder zur Trockne eingedampft.

Spaltung der Steroidkonjugate

Steroidsulfatide und Steroidsulfate werden nun gemeinsam weiterverarbeitet und mittels Solvolyse in Äther-Perchlorsäure gespalten.

Der Rückstand der eingedampften Sulfokonjugate wird in 30 ml Äther-Perchlorsäure (100:1 v/v) gelöst und die Lösung bei 37°C kurz zum Sieden gebracht. Anschließend werden die Gläser mit Polyäthylenstopfen verschlossen und 24 Stunden bei 37°C inkubiert.

Nach der Spaltung wird die Ätherphase mit 10 ml Wasser zur Entfernung der Perchlorsäure gewaschen. Zur Extraktion der phenolischen Steroide wird mit 10 ml 1 n NaOH gewaschen, danach dreimal mit Wasser bis zu neutraler Reaktion.

Die nun nur noch neutrale Steroide enthaltende Ätherphase wird zur Trockne eingedampft.

Isolierung neutraler Steroide

Die neutralen Steroide aus den Fraktionen der freien Steroide, Steroid-sulfatide und Steroid-sulfate werden wie folgt isoliert:

Nicht ketonische Steroide werden abgetrennt, indem der Rückstand der jeweiligen Fraktionen auf Kieselgel-Fertigplatten (F₂₅₄, E. Merck., Schichtdicke 0,25 mm) mittels wenig Chloroform-Methanol (1:1 v/v) quantitativ überführt und mit entsprechenden Standardsteroiden zu beiden Seiten im System Chloroform-Dioxan (94:6 v/v) aufsteigend chromatographiert wird.

Die Zonen von Androstendiol lassen sich durch Anfärben der Standards mit konz. Schwefelsäure festlegen. Die Elution dieser Fraktion erfolgt mit Chloroform-Methanol (9:1 v/v). Zur weiteren Reinigung werden die eingedampften Rückstände der Proben noch zweimal der aufsteigenden Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel (F₂₅₄ E. Merck, Schichtdicke 0,25 mm) im System Chloroform-Äthanol (9:1 v/v) unterworfen. Zur Elution wird reines Methanol, danach Methanol-Methylenchlorid (9:1 v/v) benutzt. Die Standardverbindungen zu beiden Seiten der Proben werden wiederum mit konz. Schwefelsäure angefärbt. Die gereinigten Proben werden nun zur Trockne eingedampft und halbiert.

Die Hälften werden jeweils zur Radioaktivitätsmessung und zur Photometrie benutzt.

Die bei der ersten Chromatographie angefallenen ketonischen Steroide:

DHEA und Androstendion werden nach der Elution mit

Chloroform-Methanol (9:1, v/v) und Methylenchlorid-Methanol (9:1, v/v) von störendem Kieselgel befreit mittels Ausschütteln mit 20 ml Äthylacetat,

1 Tropfen Eisessig und 10 ml Wasser pro Probe.

Danach wird noch mehrmals mit Wasser nachgewaschen.

Der Rückstand wird zur Trockne eingedampft. Die Überführung in 2,4-Dinitrophenylhydrazon geschieht folgendermaßen (98, 99, 100):

Zu den Rückständen wird 0,2 ml 0,2 %iges DNPH-Reagenz gegeben und zur Trockne eingedampft. Der Trockenrückstand wird in 2 ml Trichloressigsäure (0,03 %) in Benzol gelöst und zugestöpselt für 30 min. bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Danach wird der Rückstand der Proben einzeln zur Trockne gebracht und mittels wenig Chloroform sofort auf Kieselgelplatten (F₂₅₄, E. Merck, Schichtdicke 0,25 mm) überführt. Zu beiden Seiten der Proben werden 10 µg des jeweiligen 2,4-Dinitrophenylhydrazon-Derivats als Standard aufgetragen.

Die Chromatographie erfolgt aufsteigend im System Chloroform-Dioxan (94:6 v/v).

Dadurch wird die genaue Trennung der Derivate von DHEA und Androstendion erreicht.

Die Androstendion-Bande wird unter UV-Licht durch Sichtbarmachen des jeweiligen Standards festgelegt und nach Abkratzen von der Platte mit Methylenchlorid-Methanol (9:1, v/v) eluiert. Die Trockenrückstände werden noch zweimaliger Reinigung durch Chromatographie auf Polyamid-Fertigplatten

(Schleicher & Schüll) unterworfen. Die Chromatographie erfolgt aufsteigend im System Chloroform-Trichloräthylen-Wasser (64:20:16, v/v/v) und die Elution mit Methylenchlorid-Methanol (9:1, v/v).

Die Rückstände werden zur Trockne gebracht.

Zur quantitativen Bestimmung der Derivate werden die Trockenrückstände nun der Photometrie im Beckman Spektralphotometer DK-2 unterworfen und anschließend die ^3H -Aktivität im Packard Szintillationsmesser gemessen.

Die verbliebene DHEA-Bande kann anhand der Farbe der Teste zu beiden Seiten festgelegt werden. Die Elution erfolgt mit Methylenchlorid-Methanol (9:1, v/v). Die Trockenrückstände werden zur Reinigung noch einmal der Chromatographie auf Kieselgelplatten (F_{254} , E. Merck) im System Chloroform-Dioxan (94:6, v/v) unterworfen. Nach Elution mit Methylenchlorid-Methanol (9:1, v/v) werden die Trockenrückstände der Eluate nun ebenfalls zur quantitativen Bestimmung der Derivate der Photometrie im Beckman Spektralphotometer sowie anschließend der ^3H -Aktivitätsmessung zugeführt.

Photometrie

Quantitative Messung der Steroid-2,4-dinitrophenylhydrazone. Dazu werden die Trockenrückstände der einzelnen Proben in 3 ml Chloroform gelöst.

DHEA und seine Derivate werden im Spektralphotometer bei einer Wellenlänge von 330, 362 und 394 nm gemessen.

Androstendion wird bei 340, 372 und 404 nm photometriert. Nach Korrektur der maximalen Absorption von DHEA-2, 4-dinitrophenylhydrazon gemäß der Formel:

$$\text{Abs.}_{362 \text{ kor.}} = 2 \times \text{Abs.}_{362} - (\text{Abs.}_{330} + \text{Abs.}_{394})$$

ließ sich die Konzentration errechnen, wobei die korrigierte Absorption von 0,033 jeweils 1,0 μg

DHEA entsprach. Die Konzentration des Androstendion-bis-2,4-dinitrophenylhydrazons wird mittels folgender Formel berechnet:

$$\text{Abs.}_{372} \text{ korr.} = 2 \times \text{Abs.}_{372} - (\text{Abs.}_{340} + \text{Abs.}_{404}),$$

wobei 1 µg Androstendion als Derivat die korrigierte Absorption von 0,048 besitzt.

Androstendiol wurde bei einer Wellenlänge von 403 nm gemessen. Die Trockenrückstände der einzelnen Proben wurden dazu in konz. Schwefelsäure/Äthanol (2:1, v/v) gelöst.

Die Berechnung erfolgte nach folgender Formel:

$$\text{Abs.}_{403} \text{ korr.} = 2 \times \text{Abs.}_{403} - (\text{Abs.}_{368} + \text{Abs.}_{418})$$

Radioaktivitätsmessung

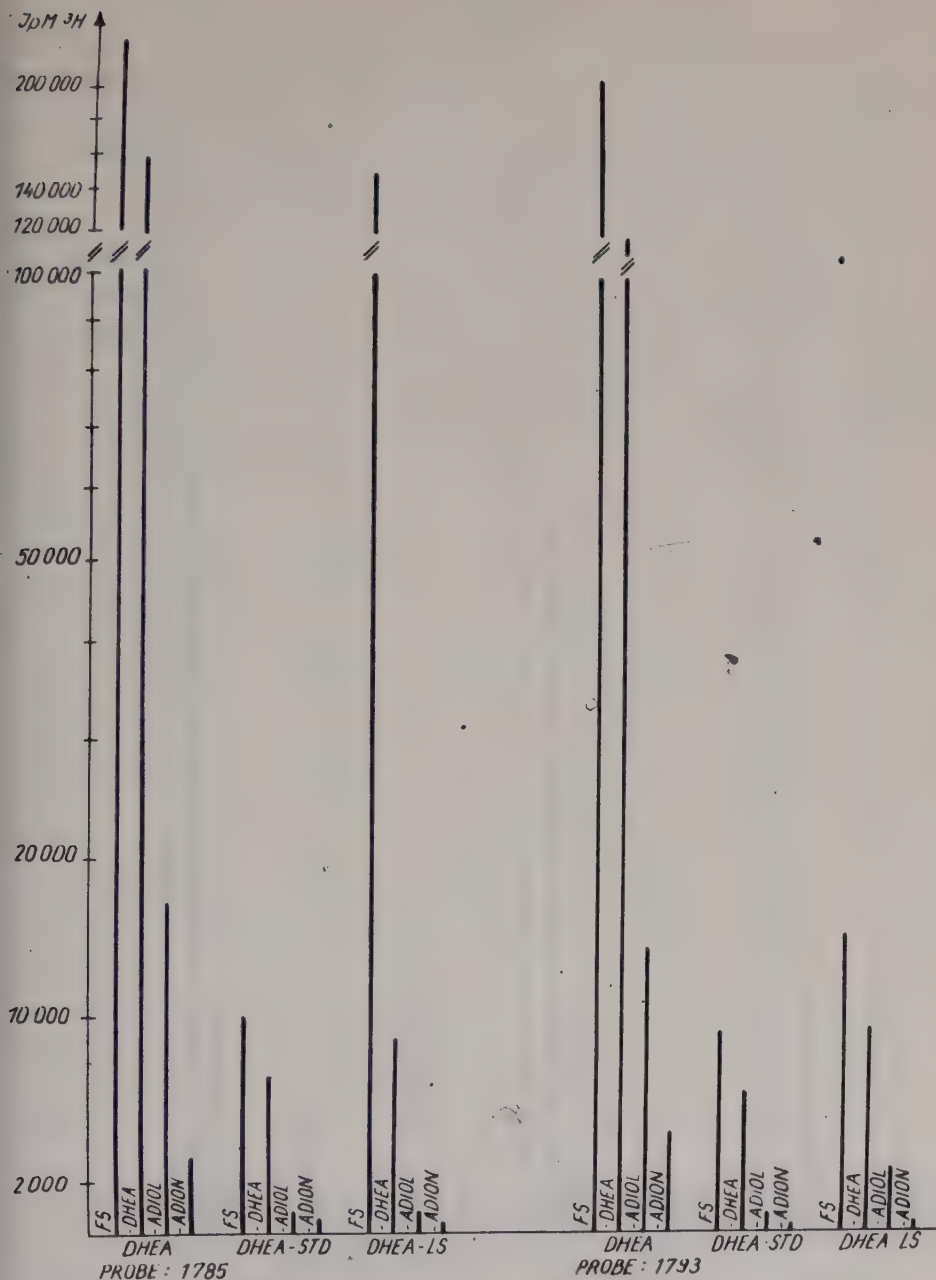
Die Messung der Radioaktivität in den Trockenrückständen der verschiedenen Steroidfraktionen erfolgte unter Verwendung von 0,4 % 2,5-Diphenyl-oxazol (POP) und 0,01 % 1,4-Bis-2-(4-methyl-5-phenyl-oxazolyl)-benzol (Dimethyl-POPOP, Packard Instruments Comp., La Grange, Ill., USA) in Methanol-Toluol (1:200 v/v) als Szintillationsflüssigkeit im Packard Tricarb Szintillationszähler vom Typ 314 EX-2. Die Berechnung der Impulse erfolgte nach Okita et al. (85).

4.

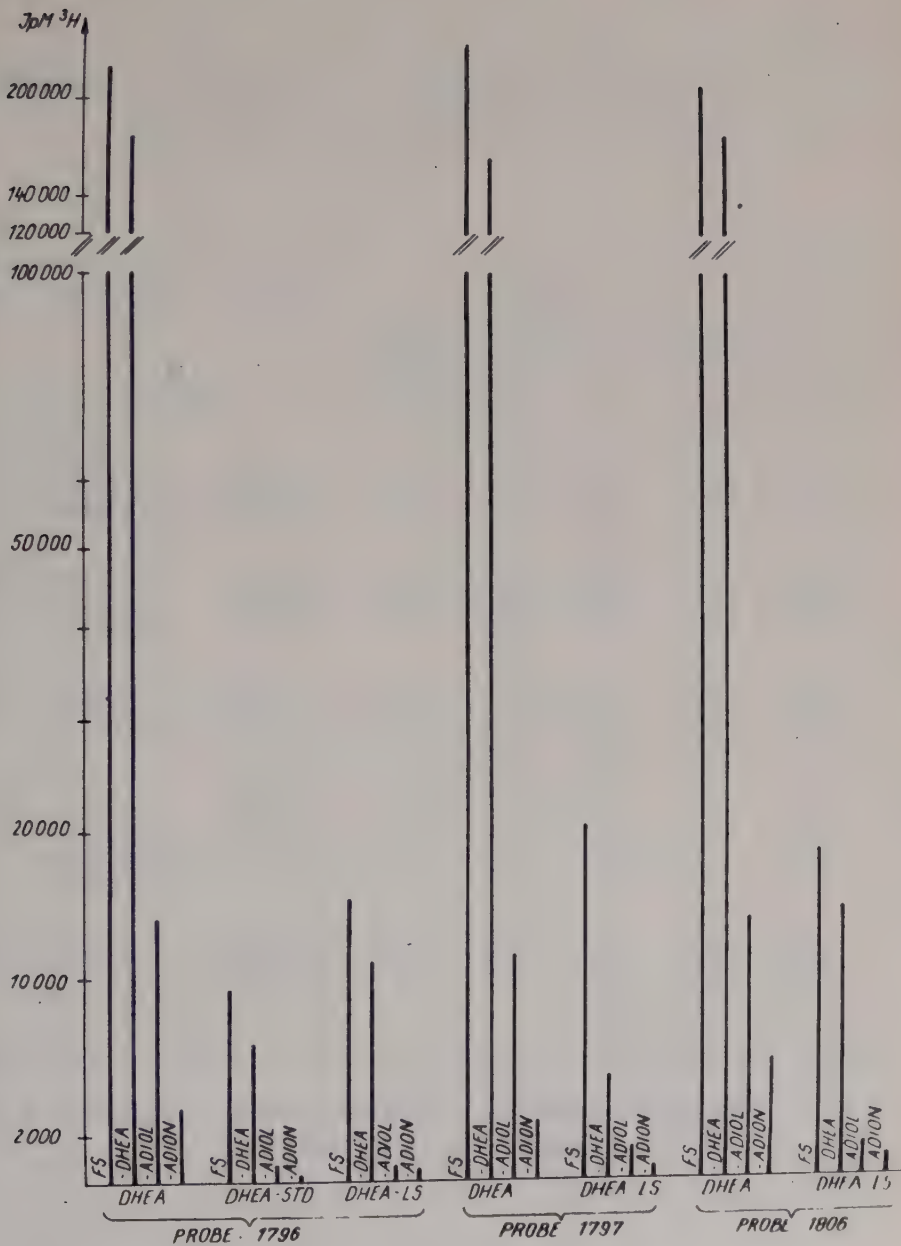
Tabelle 1: Freie Steroide in Zellkulturen nach Inkubation mit 7α - ^3H -DHEA, 7α - ^3H -DHEA-Sulfatid oder 7α - ^3H -DHEA-Laurylsulfat.

No	Material	Substrat	³ H in				
			IpM	-DHEA	-Adiol	-Adion	D/A
			Freie Steroide				
1785	Endo- metrium- hyperplasie	DHEA	234.000	159.000	17.300	3.250	9,19
		DHEA-STD	10.100	6.870	680	395	10,10
		DHEA-LS	147.000	8.620	732	330	11,78
1793	Portio- Uteri- Karzinom	DHEA	209.000	118.000	14.100	4.290	8,37
		DHEA-STD	9.230	6.070	570	205	10,65
		DHEA-LS	15.200	9.550	2.420	330	3,95
1796	Uterus myomatosus	DHEA	223.000	174.000	13.900	3.280	12,52
		DHEA-STD	9.320	6.230	512	128	12,17
		DHEA-LS	14.900	10.600	582	456	18,21
1797	Endo metrium Sekretions- phase	DHEA	236.000	162.000	11.400	2.390	14,21
		DHEA-LS	20.800	4.400	1.270	410	3,46
1806	prolif. Endo- metrium	DHEA	213.000	177.000	13.700	5.220	12,92
		DHEA-LS	18.300	14.200	1.340	894	10,60

D/A = Verhältnis : DHEA/ANDROSTENDIOL in der Fraktion der freien Steroide.



Ad Tabelle 1: Freie Steroide in Zellkulturen nach Inkubation
mit $7\alpha\text{-}^3\text{H}$ -DHEA, $7\alpha\text{-}^3\text{H}$ -DHEA-Sulfatid oder
 $7\alpha\text{-}^3\text{H}$ -DHEA-Laurylsulfat

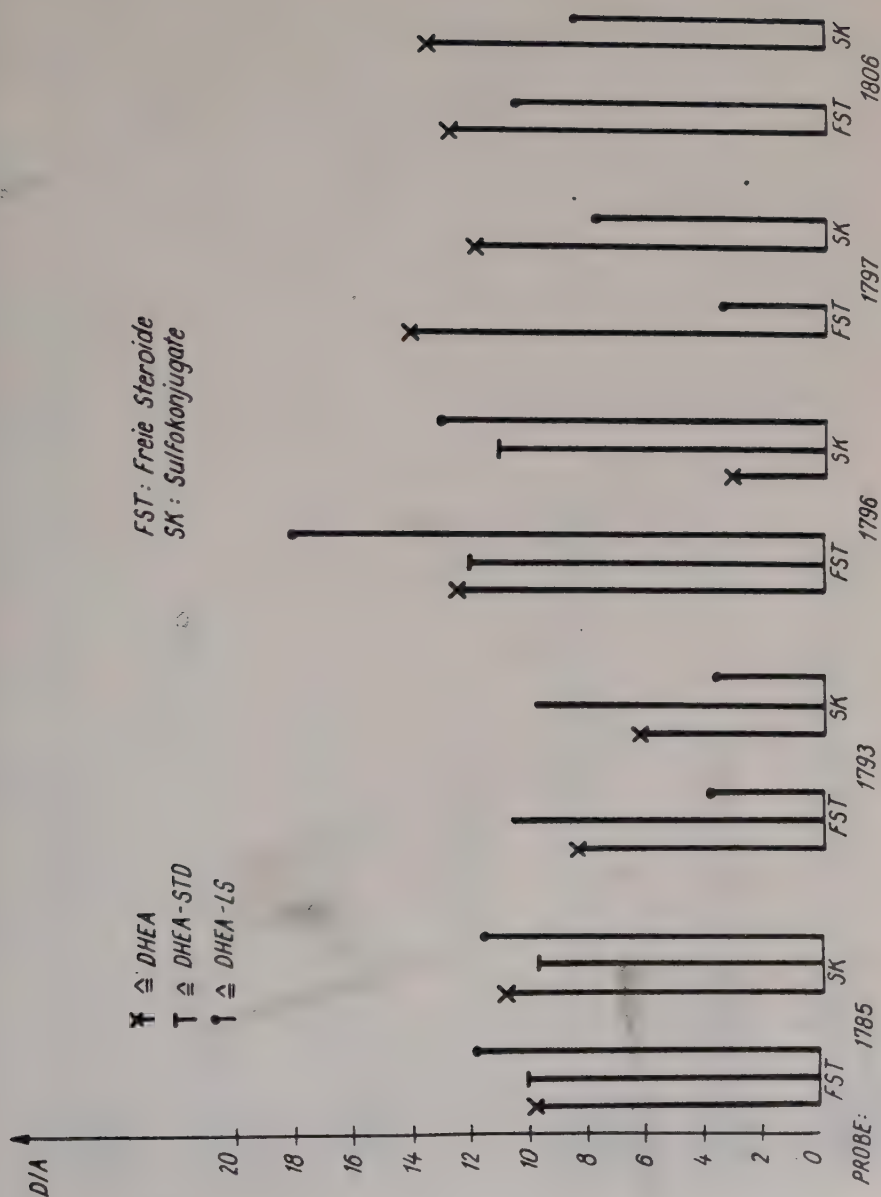


Ad Tabelle 1: Freie Steroide in Zellkulturen nach Inkubation mit 7α - ^3H -DHEA, 7α - ^3H -DHEA-Sulfatid oder 7α - ^3H -DHEA-Laurylsulfat

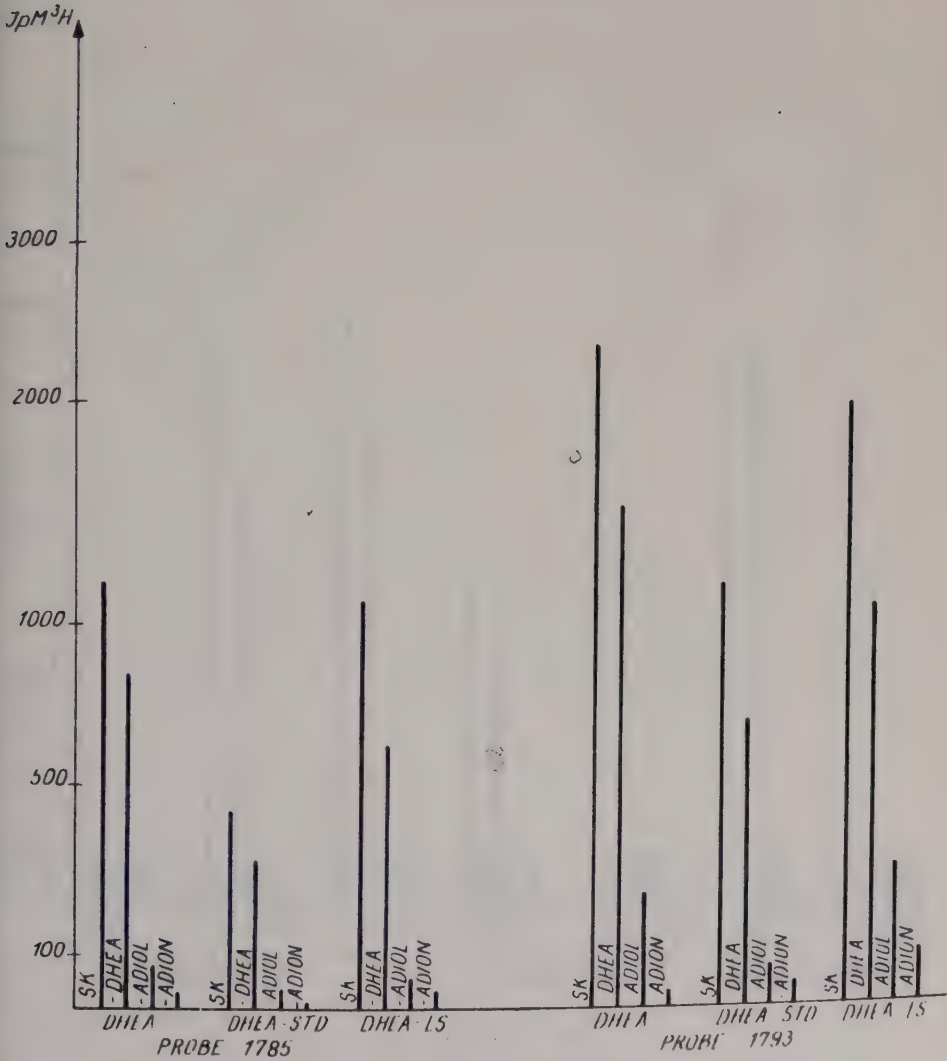
Tabelle 2: Sulfokonjugate in Zellkulturen nach Inkubation mit 7α - ^3H -DHEA, 7α - ^3H -DHEA-Sulfatid oder 7α - ^3H -DHEA-Laurylsulfat.

No	Material	Substrat	IpM ^3H in				
			Sulfo-konjugate	-DHEA	-Adiol	-Adion	D/A
1785	Endo-metrium-hyperplasie	DHEA	1.160	821	76	24	10,80
		DHEA-STD	423	304	31	12	9,81
		DHEA-LS	1.090	606	52	32	11,65
1793	Portio-uteri-Karzinom	DHEA	2.310	1.460	232	28	6,29
		DHEA-STD	1.160	682	69	41	9,88
		DHEA-LS	2.020	1.080	296	102	3,65
1796	Uterus myomatosus	DHEA	835	412	131	31	3,15
		DHEA-STD	1.860	1.210	108	41	11,20
		DHEA-LS	2.360	1.690	129	96	13,10
1797	Endo-metrium Sekretions-phase	DHEA	855	612	51	36	12,00
		DHEA-LS	1.670	1.010	128	28	7,89
1806	prolif. Endo-metrium	DHEA	2.860	1.890	139	56	13,60
		DHEA-LS	1.740	870	101	42	8,61

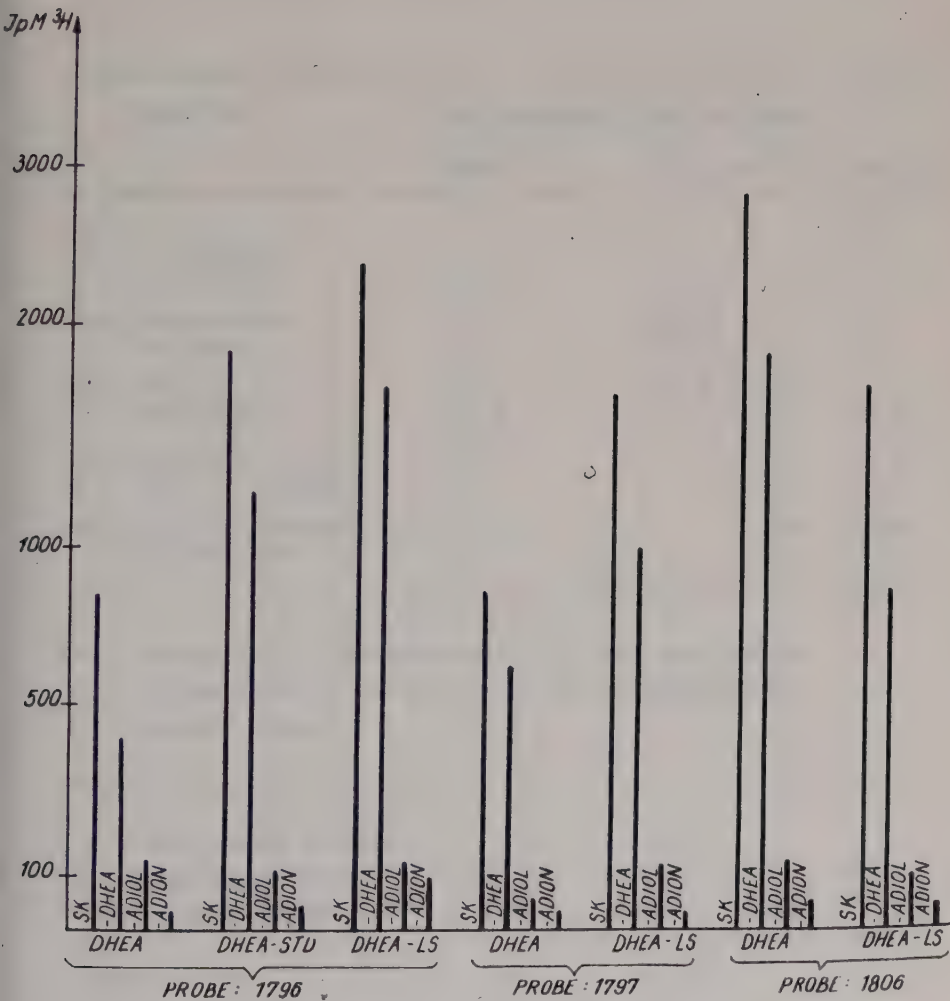
D/A = Verhältnis : DHEA/ANDROSTENDIOL in der Fraktion der sulfokonjugierten Steroide



Ad Tabelle 3: Cytostatische Effekte von Steroiden und Steroid-konjugaten in Zellkulturen von menschlichen Geweben.



Ad Tabelle 2: Sulfokongjugate in Zellkulturen nach Inkubation mit 7α-³H-DHEA, 7α-³H-DHEA-Sulfatid oder 7α-³H-DHEA-Laurylsulfat



Ad Tabelle 2: Sulfokongjugate in Zellkulturen nach Inkubation mit 7α - ^3H -DHEA, 7α - ^3H -DHEA-Sulfatid oder 7α - ^3H -DHEA-Laurylsulfat

Tabelle 3: Cytostatische Effekte von Steroiden und Steroidkonjugaten in Zellkulturen von menschlichen Geweben

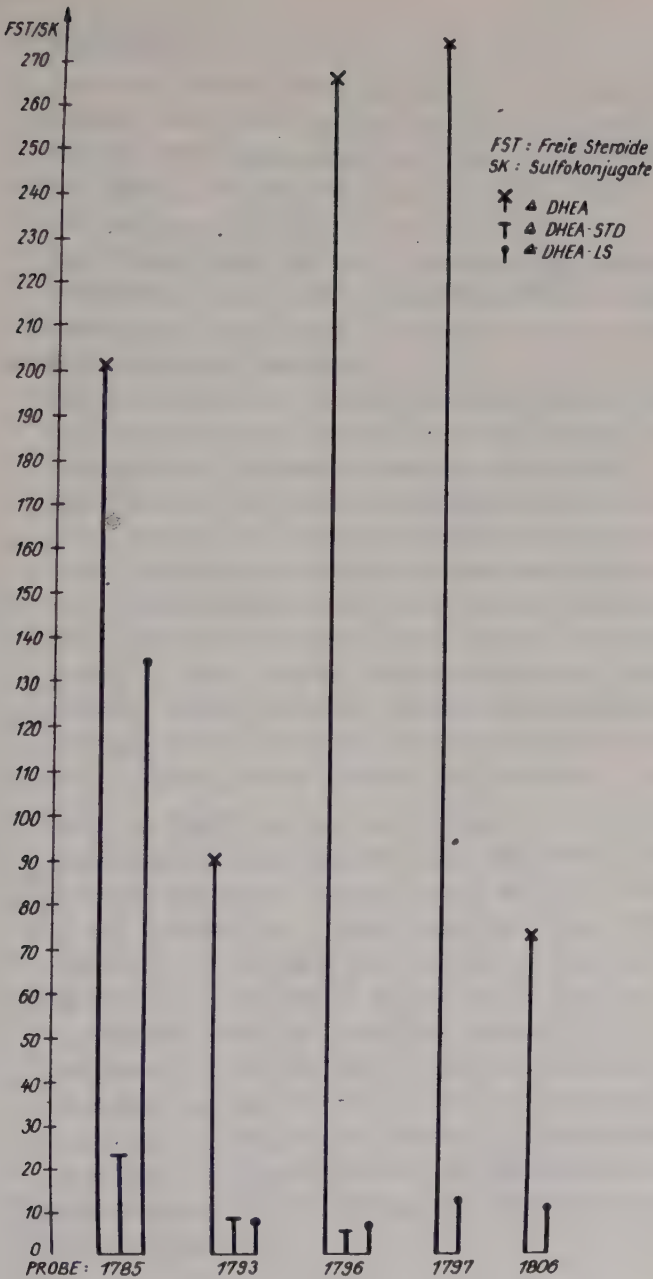
No	Material	Morphologische Untersuchung D/A		
		DHEA	DHEA-STD	DHEA-LS
1785	Endometrium-hyperplasie	9,8 10,8	10,1 9,8	11,8 11,65
1793	Portio-uteri-Karzinom	8,4 6,3	+ 10,65 9,9	3,9 3,7
1796	Uterus myomatosus	12,5 3,15	12,2 11,2	+++ 18,2 13,1
1797	Endometrium der Sekretionsphase	14,2 12,0		3,46 7,9
1806	proliferierendes Endometrium	(+) 12,92 13,6		++(+) 10,60 8,61

D/A = Verhältnis: DHEA/Androstendiol in der Fraktion der freien Steroide (obere Werte) und Sulfokonjugate (untere Werte).

+ = beginnende Nekrose
 ++ = Nekrose in 50 %
 +++ = totale Nekrose

Tabelle 4: Quotient aus dem Verhältnis der freien Steroide
zu den sulfokonjugierten Steroiden:

No	Material	Substrat	Freie St./sulfokonj. St.
1785	Endometrium- hyperplasie	DHEA	201,72
		DHEA-STD	23,88
		DHEA-LS	134,86
1793	Portio-uteri- Karzinom	DHEA	90,48
		DHEA-STD	7,96
		DHEA-LS	7,52
1796	Uterus myomatosus	DHEA	267,07
		DHEA-STD	5,01
		DHEA-LS	6,31
1797	Endometrium der Sekretions- phase	DHEA	276,02
		DHEA-LS	12,46
1806	proliferierendes Endometrium	DHEA	74,48
		DHEA-LS	10,52



Ad Tabelle 4: Quotient aus dem Verhältnis der freien Steroide zu den sulfokonjugierten Steroiden.

5. DISKUSSION

Über den Einfluß von Steroiden auf die Aktivität der G-6-PDH wurde bereits ausführlich berichtet (52, 74, 76, 82, 83), ebenso über die erniedrigte Konzentration an DHEA in Plasma, Urin und im Gewebe von Karzinompatientinnen (3, 15, 14, 16, 17, 18). In der vorliegenden Arbeit haben wir nach Bebrütung der untersuchten Gewebe mit DHEA, DHEA-LS und DHEA-STD bei allen drei Substraten Einfluß der 17- β -Oxidoreduktase und 3- β -Oxidoreduktase gefunden.

Wie aus Tabelle 1 und 2 hervorgeht, konnten wir in allen bebrüteten Geweben auch die Metaboliten des DHEAs Androstendiol und Androstendion nachweisen.

Im Gegensatz zu den Untersuchungen von Dao und Mitarb. (20), die bei 85 untersuchten Mammakarzinomen nur in 19 Fällen Sulfataseaktivität nachgewiesen hatten, konnten wir in allen untersuchten Geweben Sulfataseaktivität und auch Sulfokinaseaktivität finden, wie Tabelle 1 und 2 zeigen. Eine erhöhte Sulfataseaktivität im Gewebe primärer Mammakarzinome, die mit dem Vorhandensein von Östrogenrezeptoren sowie dem Ansprechen auf Hormontherapie korrelierten, wurde bereits von Leung (49, 50) beschrieben.

Nach der Bebrütung der Tumorgewebe mit den lipophilen Steroidkonjugaten fand man nach der ersten Chromatographie die Radioaktivität sowohl in der Sulfat-Fraktion als auch in der Fraktion der freien Steroide. Dies verdeutlicht Tabelle 4, in der man den Quotienten aus dem Verhältnis der Fraktion der freien Steroide zur Fraktion der Steroidsulfate dargestellt hatte. Man konnte hier in 2 Fällen beobachten (1796 und 1785), daß die Sulfatase beim DHEA-Sulfatid langsamer wirkt als beim Laurylsulfat. Das System Sulfokinase - Sulfatase scheint im Gleichgewicht zu stehen, wobei das Gleichgewicht bei den Sulfatiden mehr zu den sulfokonjugierten Steroiden incliniert als bei den Laurylsulfaten.

Den Nachweis an Sulfokinase liefern die Versuche mit freiem DHEA als Substrat. Hier ist die Radioaktivität hauptsächlich in der Fraktion der freien Steroide geblieben, ein nicht übersehbarer Teil aber auch in der Fraktion der Steroidsulfate.

Tabelle 4 zeigt, daß die Steroid-Sulfokinase sehr unterschiedlich bei den verschiedenen Tumorgeweben wirkt. Warum die Enzymaktivität so unterschiedlich ist und wodurch sie beeinflußt wird, mußte zunächst offen bleiben. Weiterhin konnten wir nicht untersuchen, ob von diesen lipophilen Steroidkonjugaten der lipophile Teil des Moleküls abgespalten worden war und danach die Sulfatase angriff, oder ob sie schon direkt mit dem lipophilen Steroidkonjugat reagiert hatte.

Die Metaboliten des DHEA, welche unter dem Einfluß der 17- β -Oxidoreduktase und 3- β -Oxidoreduktase entstanden sind, zeigt für die Fraktion der freien Steroide Tabelle 1.

Die letzte Spalte rechts zeigt den Quotienten D/A (Dehydroepiandrosteron/Androstendiol), der später noch verdeutlicht wird.

Die eben genannten Enzyme wirken nicht nur bei den freien Steroiden, sondern auch direkt bei den Steroidkonjugaten. Den Metaboliten Androstendiol haben wir in allen bebrüteten Tumorgeweben, auch in der Fraktion der Steroidkonjugate, gefunden (Tabelle 2). In Tabelle 3 wurde der Quotient D/A sowohl für die freien, als auch für die sulfokonjugierten Steroide dargestellt und die möglichen Korrelationen zwischen diesem Verhältnis und der Zellnekrose aufgezeigt. Je höher der Koeffizient D/A lag, desto wahrscheinlicher kam es zur Zellnekrose. Im Gewebe 1796 sah man nach der Bebrütung mit DHEA-Laurylsulfat bei einem Koeffizienten D/A der freien Steroide von 18,21 totale Nekrose, ähnlich im Gewebe 1806 mit Koeffizienten D/A der freien Steroide von 10,60 beginnende bis 50 %ige

Nekrose. Nach Bebrütung mit DHEA-STD fand man im Gewebe 1793 bei einem Quotienten D/A von 10,65 bei den freien Steroiden ebenfalls beginnende Nekrose.

Diese mögliche Korrelation gilt nach unseren Befunden für das Verhältnis D/A bei den freien Steroiden sowohl als auch bei den Steroidsulfatiden.

Ob das bebrütende Substrat freies DHEA, DHEA-LS oder DHEA-Sulfatid gewesen war, spielte keine Rolle.

Darüberhinaus schien von den drei getesteten Verbindungen DHEA-Laurylsulfat die effektivste zu sein, indem sie zu einer mehr oder weniger ausgesprochenen Inhibition des Zellwachstums in zwei der fünf getesteten Zellkulturen führte. Dies könnte bedingt sein durch die höhere Lipophilie, wodurch DHEA-Laurylsulfat wesentlich schneller in die Zelle eindringen kann als das weniger lipophile DHEA.

Aus den DHEA-in-vitro-Versuchen weiß man, daß das freie DHEA mit einem K_1 -Wert von 10^{-5} Mol, das mit den physiologischen Plasmaspiegeln von sulfokonjugiertem DHEA korreliert, einen inhibitorischen Effekt auf die G-6-PDH ausübt (6, 72). Das Androstendiol hingegen, das aus DHEA unter dem Einfluß der 17- β -Oxidoreduktase in jedem menschlichen Gewebe entsteht (70), hat in in-vitro-Versuchen sowohl in seiner freien, als auch in seiner sulfokonjugierten Form keine nennenswerte Wirkung auf die G-6-PDH-Aktivität gezeigt (6, 7). Das Verhältnis D/A zeigt eine mögliche Wirkung auf die G-6-PDH. Je höher die Aktivität der G-6-PDH, desto mehr NADPH entsteht, was als Substrat für die 17- β -Oxidoreduktase funktioniert. So entsteht bei verschiedenen Erkrankungen, bei denen die Aktivität der G-6-PDH stark erhöht ist, wie z.B. bei Psoriasis vulgaris (39), Adipositas, Hypertension und auch in der Menopause (96) ein Überschuß an NADPH, und somit wird DHEA schneller in Androstendiol umgewandelt. Eine neuere Untersuchung zeigte einen Zusammenhang zwischen G-6-PDH-Aktivität und Östradiol-bindungskapazität und somit hormonale Abhängigkeit in einigen malignen Mammatumoren (19).

Ob die Aktivität der G-6-PDH, die sicher von DHEA oder seinen lipophilen Sulfokonjugaten abhängt, wirklich für die pharmakologischen Wirkungen dieser Verbindungen verantwortlich ist, kann noch nicht entschieden werden. Eine solche Korrelation erscheint auf alle Fälle denkbar und würde mit den Ergebnissen übereinstimmen, die während der Behandlung der Psoriasis vulgaris mit DHEA (11, 31, 32, 38, 39) und aus den Experimenten mit Lymphozytenkulturen gewonnen wurden (36, 37).

6. Zusammenfassung

Wir bebrüteten Zellkulturen menschlichen Gewebes mit 7α - ^3H -DHEA, 7α - ^3H -DHEA-Sulfatid und 7α - ^3H -DHEA-Laurylsulfat in 10^{-5} molarer Konzentration.

Bei allen drei Substraten konnten wir die Aktivitäten der 17- β -Oxidoreduktase und 3- β -Oxidoreduktase nachweisen: in allen bebrüteten Geweben waren die Metaboliten des DHEA Androstendiol und Androstendion nachweisbar. Weiterhin konnten wir in allen untersuchten Geweben sowohl Sulfatase- als auch Sulfokinaseaktivität finden, wobei die Aktivität der beiden Enzyme im Gleichgewicht zu stehen schien.

Eine wichtige Rolle schien das Verhältnis von DHEA zu Androstendiol zu spielen, da wir bei der morphologischen Untersuchung der Zellkulturen häufiger Zellnekrosen bzw. Inhibition des Zellwachstums gefunden hatten, je höher der Quotient D/A war.

7. Verwendete Abkürzungen:

Abs.	Absorption
Abs. 362 korr.	korrigierte Absorption bei der Wellenlänge von 362 nm
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
Adiol	Androstendiol
Adion	Androstendion
cAMP	cyclisches 3' 5'-Adenosinmonophosphat
DHEA	Dehydroepiandrosteron
DHEA-STD	DHEA-Sulfatid
DHEA-LS	DHEA-Laurylsulfat
D/A	DHEA/Adiol
DNPH	Dinitrophenyl-2,4-Hydrazin
FSt.	freie Steroide
G-6-PDH	Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
IpM	Impulse/min
NADP	Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat
NADPH	reduzierte Form von NADP
NaOH	Natronlauge

Trivialnamen und chemische Bezeichnungen der in dieser Arbeit vorkommenden Steroide:

Androstendiol	5-Androsten-3- β ,17- β -diol
Androstendion	4-Androsten-3- β ,17- β -dion
DHEA	3- β -Hydroxy-5-androsten-17-on
Östradiol	1,3,5 (1 α)-Östrien-3,17- β -diol
Testosteron	17- β -Hydroxy-4-androsten-3-on

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. ABRAHAM, G.E., Z.H. CHAKMAKJIAN, J.E. BUSTER,
J.R. MARSHALL:

Ovarian and adrenal contributions to peripheral androgens in hirsute women.

Obstet. and Gynec. 46, (1975) 169

2. ABRAMOVICH, D.R., P. ROWE:

Foetal plasma testosterone levels at mid-pregnancy and at term: Relationship to foetal sex.

J. Endocr 56, (1973) 621

3. BACIGULUPO, G., und H. LINGK:

Die Urinausscheidungen von neutralen 17-Ketosteroiden, Androsteron und Aetiocholanolon bei gesunden Frauen und Frauen mit frühem und fortgeschrittenem Brustkrebs.

Arch. Geschwulstforsch 32, (1968) 95

4. BAULIEU, E.E.:

Three sulfate esters of 17-ketosteroids in the plasma of normal subjects and after administration of ACTH.

J. clin. Endocrin Metab. (Springfield) 20,
(1960) 900-904

5. BAULIEU, E.E.:

Studies of conjugated 17-ketosteroids in a case of adrenal tumor.

J. clin. Endocrin. Metab. (Springfield) 22,
(1962) 501-510

6. BENES, P., R. FREUND, P. MENZEL und G.W. OERTEL:
Inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase
by steroids II. Effects of 17-oxo-C₁₉-steroids
upon human placental glucose-6-phosphate
dehydrogenase.
J. Steroid. Biochem. 1, (1970) 287-290

7. BENES, P., und G.W. OERTEL:
Inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase
by steroids III: Effects of dehydroepiandrosterone,
its conjugates and derivatives upon the activity of
human placental glucose-6-phosphate dehydrogenase.
J. Steroid. Biochem. 2, (1971) 289-292

8. BOLTE, E., S. MANCUSO, C. ERIKSON, N. WIKQUIST and
E. DICZFALUZY:
Studies on the aromatization of neutral steroids
in pregnant women.
I: Aromatization of C₁₉-steroids by placentas
perfused in situ.
Acta Endocrin (K'hvn) 45, (1964) 535-559

9. BRANDAU, H., und W. LUH:
Der Einfluß von Steroidhormonen auf die Glucose-
oxidation.
Geburtshilfe, Frauenheilkunde 28, (1968) 1074-1075

10. BRAUNSBURG, H., E. KILLEN, E. MELVILLE:
Studies on steroid sulphation and binding by
human malignant tumours.
Eur. J. Cancer 10, (1974) 13-20

11. BREGENZER, M., B. MORSCHES, H. HOLZMANN und G.W. OERTEL:

Steroide und Haut. VII Ausscheidung von C₁₉- und C₁₈-Steroiden in Stuhl und Harn bei Psoriasis vulgaris nach Gabe von (7 α -³H) 3- β -Hydroxy-5-androsten-17-on (³⁵S)sulfat.

Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chemie 352, (1971) 539-554

12. BROWNSEY, B., E.H. CAMERON, K. GRIFFITH, E.N. GLEAVE, A.P. FORREST and H. CAMPBELL:

Plasma dehydroepiandrosterone sulphate levels in patients with benign and malignant breast disease.

Eur. J. Cancer 8, (1972) 131-137

13. BUDDECKE, E.:

Grundriß der Biochemie

Berlin, New York, Walter de Gruyter Verlag 1973, 3. Auflage

14. BULBROOK, R.D.:

Urinary androgen excretion and the etiology of breast cancer.

J. Natl. Cancer Inst. 46, (1972) 1039-1042

15. BULBROOK, R.D., F.C. GREENWOOD and J.L. HAYWARD:

Selection of breast cancer patients for adrenalectomy or hypophysectomy.

Lancet i (1960) 1154

16. BULBROOK, R.D., J.L. HAYWARD, C.C. SPICER and B.S. THOMAS:

A comparison between urinary steroid excretion of

normal women and of women with advanced breast cancer.

Lancet ii (1962) 1235

17. BULBROOK, R.D., J.L. HAYWARD, C.C. SPICER and B.S. THOMAS:

Abnormal excretion of urinary steroids by women with early breast cancer.

Lancet ii (1962) 1238

18. BULBROOK, R.D., J.L. HAYWARD and C.C. SPICER:

Relation between urinary androgen and corticoid excretion and subsequent breast cancer.

Lancet 2 (1971) 395-398

19. DAEHNFELD, J.L., und M. SCHÜLEIN:

High affinity oestradiol receptors and the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase and lactose synthetase in mammary carcinomata of postmenopausal women.

Br. J. Cancer 31, (1975) 424

20. DAO, T.L., C. HAYES and R. LIBBY:

Steroid sulfatase activities in human breast tumours (38109)

Proc. soc. Exp. Biol. Med. 146, (1974) 381-384

21. DESHPANDE, N., J.L. HAYWARD and R.D. BULBROOK:

Plasma 17-hydroxy-corticosteroids in patients with breast cancer and in normal women.

J. Endocr. 32, (1965) 167

22. DORFMAN, R.J. und F. UNGAR:
Metabolism of steroid hormones
New York, London (1965) 414 f., 545, 559,
573, 603.
23. DULBECCO, R., und V. VOGT:
Plaque formation and isolation of pure lines
with poliomyelitis viruses.
J. exp. med, 99, (1954) 167-182
24. FEHERTY, P., G. FARBER-BROWN and A.E. KELLIE:
Oestradiol receptors in carcinoma and benign
disease of the Breast: An in-vitro assay.
Brit. J. Cancer 25, (1971) 697
25. GORDON, G.G., J. OLIVO, P. RAFII, A.L. SOUTHREN:
Conversion of androgens to estrogens in cirrhosis
of the liver.
J. clin. Endocr. 40, (1975) 1018
26. GRATTAROLA, R.:
Urinary excretion of 11-deoxy-17-ketosteroids by
patients with breast cancer with or without
ovulatory cycles.
J. Endocr. 38, (1967) 77-78
27. HÄHNEL, R., und E. TWADDLE:
The steroid specificity of the estrogen receptor
of human breast carcinoma.
J. Steroid. Biochem. 5, (1974) 119-122

28. HÄHNEL, R., E. TWADDLE and A.B. VIVIAN:
Oestrogen receptors in human breast cancer.
In vitro binding of oestradiol by benign
and malignant tumours.
Steroids 18, (1971) 681
29. HELLMAN, L., H.L. BRADLOW and B. ZUMOFF:
Decreased conversion of androgens to normal
17-ketosteroid metabolites as a result of
treatment with o,p-DDD.
J. clin. Endocrin. Metab. 36, (1973) 801-803
30. HILGERTOVA, J., M. STRAKOVA, H. VROBA, L. GREGOROVA,
J. SONKA and M. JOSIFKO:
Seasonal variations of human erythrocyte glucose-6-
phosphate dehydrogenase activity in relation to
temperature and dehydroepiandrosterone excretion.
Clin. Chim. Acta 36, (1972) 511-515
31. HOFFMANN, G., P. MENZEL, G.W. OERTEL, B. MORSCHES
und H. HOLZMANN:
Steroide und Haut X. Stoffwechsel von 7α - ^3H -DHEA-
Sulfat bei Psoriasis vulgaris vor und nach der Gabe
von DHEA-Sulfat.
Steroidologica 2, (1971) 237-243
32. HOFFMANN, G., B. MORSCHES, U. DÜHLER, H. HOLZMANN
und G.W. OERTEL:
Steroide und Haut XIII. In-vitro Versuche mit 7α - ^3H -
Dehydroepiandrosteron und seinen Sulfokonjugaten an
intakten Erythrocyten bei Psoriasis vulgaris.
Arch. Dermatol. Forsch. 243, (1972) 18-30

33. HOFFMANN, G., F. WENDLBERGER und G.W. OERTEL:
Metabolismus von Steroidkonjugaten XIII. In vivo-
Perfusion der menschlichen Niere mit 7α - ^3H -DHEA-
Sulfatid.
Endocrinologie 63, (1974) 279-287
34. HOFFMANN, G., F. WENDLBERGER, H.J. ZIMMERMANN
and G.W. OERTEL:
Metabolism of steroid conjugates XIV. In vivo-
perfusion of human muscle tissue with 7α - ^3H -
Dehydroepiandrosterone sulfatide.
Endocrinologie 63, (1974) 353-357
35. HOLZMANN, H.:
Neues aus dem Gebiet der Psoriasisforschung.
Deutsch. Med. J. 23, (1972) 137-139
36. HOLZMANN, H., J. FRÄNZ, B. MORSCHES, G.W. OERTEL
und K.H. DEGENHARDT:
Zur Wirkung des Dehydroepiandrosterons auf die
Mitose in Lymphozytenkulturen.
Dtsch. Med. Wschr. 97, (1972) 1570-1571
37. HOLZMANN, H., J. FRÄNZ, B. MORSCHES, G.W. OERTEL
und K.H. DEGENHARDT:
Einfluß des Dehydroepiandrosterons auf den
Mitosezyklus.
Arzneim. Forsch. 23, (1973) 271-274
38. HOLZMANN, H., B. MORSCHES, R. GEBHARDT, G. HOFFMANN,
P. MENZEL und G.W. OERTEL:
Untersuchungen zum DHEA-Gehalt im Plasma von
Psoriatikern.
Z. Haut Geschlechtskr. 45, (1970) 579-590

39. HOLZMANN, H., B. MORSCHES, R. KRAPP, N. HOEDE
und G.W. OERTEL:
Zur Therapie der Psoriasis mit Dehydroepiandrosteron-
Oenanthat II. I.M. Verabfolgung von 300 mg Depot
pro Woche.
Arch. Dermatol. Forsch. 247, (1973) 23-28
40. HOLZMANN, H., B. MORSCHES, R. KRAPP, G.W. OERTEL
und P. MENZEL:
Kann die Schuppenflechte als DHEA-Mangelsyndrom
aufgefaßt werden?
Z. Haut Geschlechtskr. 46, (1971) 785-794
41. HOPPER, B.R., S.S.C. YEN:
Circulating concentrations of dehydroepiandrosterone
and dehydroepiandrosterone sulfate during puberty.
J. clin. Endocr. 40, (1975) 458
42. JENSEN, E.V., G.E. BLOCK, S. SMITH, K. KAYSER
and E.R. De SOMBRE:
Oestrogen receptors and breast cancer response to
adrenalectomy.
Natl. Cancer Inst. Monogr. 34, (1971) 55
43. JOHANNSEN, H., L. TERENIUS and L. THOREN:
The binding of oestradiol-17- β to human breast cancer
and other tissues in vitro.
Cancer Res. 30, (1970) 692
44. KARLSON, P.:
Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und
Naturwissenschaftler, 241-242
Stuttgart, G. Thieme Verlag, 1970, 7. Auflage

45. KEPP, R., und H.J. STAEMMLER:
Lehrbuch der Gynäkologie
Stuttgart, G. Thieme Verlag, 1971, 10. Auflage
46. KERN, G.:
Gynäkologie. Ein kurzgefaßtes Lehrbuch.
Stuttgart, G. Thieme Verlag, 1970
47. KNUDSEN, J.F., V.B. MAHESCH:
Initiation of precocious sexual maturation in
the immature rat treated with dehydroepiandrosterone.
Endocrinology 97, (1975) 458
48. KORENMANN, S.G., and B.A. DUKES:
Specific Oestrogen binding by the cytoplasm of human
breast carcinoma.
J. clin Endocr. 30, (1970) 639
49. LEUNG, B.S., W.S. FLETSCHER, T.D. LINDELL,
D.C. WOOD and W.W. KRIPPAEHNE:
Predictability of response to endocrine ablation
in advanced breast carcinoma.
Arch. Surg. 106, (1973) 515-519
50. LEUNG, B.S., W. JACK and D.C. WOOD:
Steroid sulfurylation in normal tissues and
mammary tumours: A micro method.
Physiol. Chem. Phys. 4, (1972) 543-552

51. LEVY, H.R.:

The pyridine nucleotide specificity of glucose-6-phosphate dehydrogenase.

Biochem. Biophys. Res. Commun. 6, (1961) 49-53

52. LEVY, H.R.:

The interaction of mammary glucose-6-phosphate dehydrogenase with pyridine nucleotides and 3- β -Hydroxy-androst-5-en-17-one.

J. Biol. Chem. 238, (1963) 775-784

53. LIMBURG, H., und M. KRAHE:

Die Züchtung von menschlichem Krebsgewebe in der Gewebekultur und seine Sensibilitäts-testung gegen neuere Zytostatika.

Dtsch. Med. Wschr. 89, (1964) 1938-1946

54. MACDONALD, P.C., CHAPDELAINE, A., u.a.:

Studies on the secretion and interconversion of the androgens.

III. Results obtained after the injection of several radioactive C₁₉-steroids, singly or as mixtures.

J. clin. Endocr. 25, 2, (1965) 1557-1568

55. MACDONALD, P.C., R. van de WIELE and S. LIEBERMANN:

Influence of daily variation in the metabolism of dehydroepiandrosterone upon the determination of its secretory rate.

J. clin. Endocr. 22, (1962) 1229-1233

56. MC KERNS, K.W., and E. KALEITA:

Inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase by hormones.

Biochem. Biophys. Res. Commun. 2, (1960), 344-348

57. MARKS, P.A. and J. BANKS:

Inhibition of mammalian glucose-6-phosphate dehydrogenase by steroids.

Proc. nat. Acad. Sci. (Wash) 46, (1960) 442-452

58. MARKS, P.A., and J. BANKS:

Erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase of normal and mutant human subjects.

J. Biol. Chem. 236, (1961) 10-17

59. MENZEL, E., P. MENZEL und G.W. OERTEL:

Hemmung der Glucose-6-Phosphat-dehydrogenase in menschlichem Hirngewebe VI. Einwirkung von Androstenolon und seinen Konjugaten auf die Aktivität der Glucose-6-Posphat-Dehydrogenase.

Hoppe-Seyler's Zschr. Physiol. Chem. 351, (1970) 759-760

60. MENZEL, P., M. GOBBERT and G.W. OERTEL:

Effects of dehydroepiandrosterone and its conjugates upon the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase.

Horm. Metab. Res. 2, (1970) 225-227

61. MENZEL, P., and G.W. OERTEL:

Inhibition of testicular glucose-6-phosphate dehydrogenase by dehydroepiandrosterone and its sulfoconjugates

Clin. Chim. Acta 29, (1970) 195-196

62. MORATO, T., A.E. LEMUS and C. GUAL:

Efficiency of dehydroepiandrosterone sulphate as an estrogen precursor (1).

Steroids, Suppl. 1, (1965) 59-74

63. NIELSON, M.H., and J.C. WARREN:

Steroid effects on glucose-6-phosphate dehydrogenase from bovine corpora lutea.

Biochim. Biophys. Acta 97, (1965) 532-541

64. OERTEL, G.W.:

Über Steroid-Konjugate im Plasma I. Isolierung von Sulfat-, Phosphat- und lipoidhaltigen 17-Ketosteroid-Konjugaten aus menschlichem Blutplasma.

Biochem. Z. 334, (1961) 431-440

65. OERTEL, G.W.:

On steroid conjugates in plasma VIII. Extraction of 17-Ketosteroid-conjugates.

Clin. Chim. Acta 8, (1963) 154-157

66. OERTEL, G.W.:

Über Steroidkonjugate im Plasma X. Biosynthese eines lipophilen Dehydroepiandrosteron-Konjugats.

Biochem. Z. 339, (1963) 125-134

67. OERTEL, G.W.:

Über Steroidkonjugate im Plasma XI. Isolierung eines lipophilen, phosphathaltigen Dehydroepiandrosteronkonjugats.

Biochem. Z. 339, (1963) 135-144

68. OERTEL, G.W.:

Über Steroidkonjugate im Plasma XII. Plasmaspiegel verschiedener Steroidkonjugate im Nebennierenvenen-, Lebervenen- und Femoralvenenblut.

Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 336,
(1964) 236-247

69. OERTEL, G.W.:

Über Steroidkonjugate im Plasma XVII. Isolierung und Charakterisierung lipophiler Steroidkonjugate aus Nebennierenrindengewebe, Plasma und Liquor.

Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 343,
(1966) 276-281

70. OERTEL, G.W.:

Dehydroepiandrosteron in biochemischer und klinischer Sicht.

Arzneim. Forsch. 21, (1971) 543-545

71. OERTEL, G.W., und L. BECK:

Metabolismus von Steroidkonjugaten VII. In vivo-Perfusion des menschlichen Ovars mit (7α - ^3H) Androstendiol-Sulfatid.

Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 352,
(1971) 689-694

72. OERTEL, G.W., und P. BENES:

The effects of steroids on glucose-6-phosphate dehydrogenase.

J. Steroid Biochem. 3, (1972) 493-496

73. OERTEL, G.W., und P. BENES:

Inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase by steroids VI. Effects of new synthetic dehydroepiandrosterone conjugates upon the activity of human placental glucose-6-phosphate dehydrogenase.

J. Steroid Biochem. 3, (1972) 903-905

74. OERTEL, G.W., P. BENES, G. HOFFMANN and E. SCHUY:

Interaction between dehydroepiandrosterone, glucose-6-phosphate dehydrogenase and cyclic adenosine-3'5'-monophosphate in neoplastic and normal human mammary tissue.

Experientia 31, (1975) 1124

75. OERTEL, G.W., P. BENES, A. RAUER und H. RAUER:

Effects of DHEA or its conjugates upon cAMP Phosphodiesterase.

Experientia 31, (1975) 29-30

76. OERTEL, G.W., P. BENES, M. SCHIRAZI, H. HOLZMANN und G. HOFFMANN:

Interaction between dehydroepiandrosterone, cyclic Adenosine-3', 5'-monophosphate and glucose-6-phosphate dehydrogenase in normal and diseased subjects.

Experientia 30, (1974) 872-873

77. OERTEL, G.W. und K. GROOT:

Über Steroidkonjugate im Plasma XIII. Isolierung, Eigenschaften und Zusammensetzung eines biosyn-

thetischen, lipophilen Dehydroepiandrosteron-konjugats.

Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 341,
(1965) 1-9

78. OERTEL, G.W., und K. GROOT:

Über Steroidkonjugate im Plasma XV. In vivo-Biogenese von C₁₉-Steroid-Sulfatiden.

Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 341,
(1965) 204-214

79. OERTEL, G.W., E. KAISER und P. BRÖHL:

Über Steroidkonjugate im Plasma V. Untersuchungen über die Bindung von 17-Ketosteroid-Konjugaten an spezifische Plasmaproteine.

Biochem. Z. 336, (1962) 154-161

80. OERTEL, G.W., P. MENZEL und D. BAUKE:

Effects of dehydroepiandrosterone and its conjugates upon the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase. III. Inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase in human ovarian tissue.

Steroidologica 1, (1970) 2-7

81. OERTEL, G.W., P. MENZEL und D. BAUKE:

Effects of dehydroepiandrosterone and its conjugates upon the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase.

Clin. Chim Acta 27, (1970) 197-201

82. OERTEL, G.W. und I. REBELEIN:

Effects of dehydroepiandrosterone and its conjugates upon the activity of glucose-6-

phosphate dehydrogenase in human erythrocytes.

Biochim. Biophys. Acta 184, (1969) 459-460

83. OERTEL, G.W., and I. REBELEIN:

Effects of dehydroepiandrosterone and its conjugates upon the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase
I. Inhibition of human red blood cell glucose-6-phosphate dehydrogenase.

J. Steroid Biochem. 1, (1970) 93-97

84. OERTEL, G.W., W. RINDT, A.K.J. BRACHETTI, H. HOLZMANN and B. MORSCHES:

Metabolism of free DHEA and certain sulfoconjugates in cell cultures from neoplastic and normal human tissue.

Steroids Lipids Res. 3, (1972) 345-352

85. OKITA, G.J., J.J. KABARA, F. RICHARDSON and G.V. Le ROY:

Assaying compounds containing ^3H and ^{14}C .

Nucleonics 15, (1957) 111-115

86. POORTMAN, J., J.A.C. PRENEN, F. SCHWARZ and J.H.H. THIJSSEN:

Interaction of delta-5-androstene-3 β , 17 β -diol with estradiol and dihydrotestosterone receptors in human myometrial and mammary cancer tissue.

J. clin. Endocr. Metab. 40, (1975) 374-379

87. POORTMAN, J., J.H.H. THIJSSEN and F. SCHWARZ:
 Androgen production and conversion to estrogens
 in normal postmenopausal women and in selected
 breast cancer patients.
 J. Clin. Endocrin. Metab. 37, (1973) 101-109
88. POORTMAN, J., D. VROEGINDEWEY-JIE, J.H.H. THIJSSEN
 and F. SCHWARZ:
 Inhibition of the binding of oestradiol to its
 specific receptor by C₁₉-steroids in human mammary
 tumour and myometrial tissue.
 J. Endocr. 64, (1975) 25 P
89. RAPOPORT, S.M.:
 Medizinische Biochemie
 Berlin VEB Volk und Gesundheit, 1975, 6. Auflage
90. RIZKALLAH, T.H., H.M.M. TOVELL, G.W. KELLY:
 Production of estrone and fractional conversion
 of circulating androstenedione to estrone in
 women with endometrial carcinoma.
 J. Clin. Endocr. 40, (1975) 1045
91. SANDER, S.:
 The in vitro uptake of oestradiol in biopsies from
 twenty-five breast cancer patients.
 Acta Path. Microbiol. Scand. 74, (1968) 301
92. SCHINDLER, A.E.:
 Betrachtungen zur Aetiologie des Corpus-Karzinoms.
 Bücherei des Frauenarztes 5, (1973) 50

93. SCHINDLER, A.E.:

Physiologie der Androgene und Wirkung der Anti-androgene bei der Frau.

Med. Welt 39, (1976) 1830-1835

94. SCHIRAZI, M., J. SCHWARZ and G.W. OERTEL:

Steroid conjugates in Plasma XXVII. Binding of DHEA-sulfatide and DHEA-sulfate to human plasma proteins as studied by electrophoresis.

Steroids Lipids Res. 4, (1973) 98-104

95. SONKA, J. und I. GREGOROVA:

Dehydroepiandrosteron - ein neuer Zutritt zur Pathogenese der Obesität.

Endokrinologie 43 (1962) 206-214

96. SONKA, J., I. GREGOROVA, M. JIRANEK, F. KÖLBEL und Z. MATYS:

Defekt des Dehydroepiandrosteron - ein neues Syndrom?

Endocrinologie 47, (1965) 152-161

97. STRUBEL, H.B., W. RINDT, G. HOFFMANN, M. SCHIRAZI and G.W. OERTEL:

Cytostatic effects of G-6-PDH-Inhibitors in cell cultures from normal and neoplastic tissue.

Steroids Lipids Res. 5, (1974) 101-106

98. TREIBER, L., W. RINDT und G.W. OERTEL:

Zur Bestimmung von Ketosteroiden mit 2,4-dinitrophenylhydrazin. II. Anwendung der Methode bei Plasmaanalysen.

Zschr. klin. Chem. u. klin. Biochem. 5, (1967) 102-106

99. TREIBER, L., und G.W. OERTEL:
Zur Bestimmung von Ketosteroiden mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin. I. Bestimmung der Methode.
Zschr. klin. Chem. u. klin. Biochem. 5,
(1967) 83-86
100. TREIBER, L., und G.W. OERTEL:
Bestimmung von Ketosteroiden mittels der 2,4-Dinitrophenylhydrazinreaktion.
In: 13. Symposion der deutschen Gesellschaft für Endokrinologie, Würzburg 2.-4. März 1967, S. 287-290
101. WANG, D.Y., J.L. HAYWARD and R.D. BULBROOK:
Testosterone levels in the plasma of normal women and patients with benign breast disease or with breast cancer.
Europ. J. Cancer 2, (1966) 373
102. WIELAND, R.G., R.P. LEVY, D. KATZ and H. HISCHMANN:
Evidence for secretion of 3 β -hydroxy-androst-5-en-17one sulfate by measurement in normal human adrenal venous blood.
Biochim. Biophys. Acta 78, (1963) 566
103. WINTER, J.S.D., C. FAIMAN:
Pituitary-gonadal relations in female children and adolescents.
Pediat. Res. 7, (1973) 948

104. ZOLLINGER, H.U.:

Pathologische Anatomie, Band II Spezielle
Pathologie

G. Thieme Verlag Stuttgart 1971

105. Abbildung 1 zusammengestellt aus

VOSS, H.E. und G.W. OERTEL:

Androgene I.

III. Chemie der Androgene.

Berlin, Heidelberg, New York,
Springer-Verlag (1973) 98-159

Danksagung

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von August 1973 bis November 1977 in der Abteilung für experimentelle Endokrinologie der Frauenklinik (Direktor: Prof. Dr. V. Friedberg) der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz auf Anregung und unter Anleitung von Prof. Dr. G.W. Oertel, der leider im November 1975 nach schwerer Krankheit verstorben ist. Ihm bin ich für die Überlassung des Themas und die Betreuung des experimentellen Teils der Arbeit dankbar.

Herrn Prof. Dr. G. Rathgen danke ich für die weitere Betreuung der Arbeit nach dem Tode von Prof. Oertel und die Übernahme des Referats.

Herrn Dr. P. Benes aus der Abteilung für experimentelle Endokrinologie danke ich für wertvolle Ratschläge bei der Durchführung der Experimente und der Abfassung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. V. Friedberg danke ich für die Übernahme des Korreferats.

Lebenslauf

Am 25.12.1949 wurde ich als erstes Kind des selbständigen Versicherungsvertreters Herbert Bahm und seiner Frau Charlotte, geb. Müller-Kraenner, in Ludwigshafen am Rhein geboren. Mein Bruder Rolf kam 1951 zur Welt.

Nach dem Besuch der Volksschule von 1956 bis 1960 wechselte ich auf das Staatliche Geschwister Scholl-Gymnasium in Ludwigshafen über und legte 1968 das Abitur ab.

Das Medizinstudium an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz begann ich im Wintersemester 1968 und bestand hier im Dezember 1974 das Staatsexamen.

Im gleichen Monat heiratete ich meinen langjährigen Studienfreund Rolf Troeber und führe seitdem den Namen Troeber-Bahm. Unsere beiden Töchter wurden im August 1975 und April 1978 geboren.

Von Januar 1975 bis März 1976 leistete ich die Medizinalassistentenzeit an der Chirurgischen-, Medizinischen- und Kinderklinik der Universitätskliniken Mainz ab.

Von Mai 1976 bis September 1977 war ich als wissenschaftliche Mitarbeiterin der Psychiatrischen Klinik der Johannes Gutenberg-Universität tätig.

Seitdem bin ich vorläufig nicht mehr berufstätig, um mich intensiver meiner Familie widmen zu können.

